Das Wachstum von Bakterien auf magnesiahaltigen Nährböden.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Kuno Blaßl

aus **Zobes** i. Sachsen.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Rostock.

Rats- und Universitäts-Buchdruckerei von Adlers Erben, G. m. b. H.

1914.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
zu Rostock.

Referent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Pfeiffer.

Bei ihrem Wachstum, namentlich auf kohlenhydrathaltigen Nährböden, bilden sehr viele Bakterien Säuren (Fettsäuren), durch welche die Reaktion des Nährbodens verändert wird. Dieses Säurebildungsvermögen ist durch die Veränderung des Nährbodens leicht nachzuweisen, wenn man demselben einen Säureindikator, am besten Lakmusfarbstoff, zusetzt. Bei höherem Säurebildungsvermögen der Bakterien, wie es z. B. statt hat bei den Milchsäurebakterien, bei den Colibakterien und bei den Staphylokokken, kann man die Säuremenge durch Titrieren mit Normalalkali quantitativ bestimmen. Bei diesen Säurebildnern kommt die Entwicklung der Bakterienrasen verhältnismäßig früh zum Stillstande, weil offenbar die Säure schädigend auf die Bakterien einwirkt, sei es, daß bei einer gewissen Säuremenge im Nährboden die im Innern der Bakterienzelle gebildete Säure nicht nach außen abgegeben werden kann, sei es, daß die durch sezernierte Fermente aus den Kohlenhydraten im Nährboden selbst gebildete Säure in die Bakterienzelle eindringt und ihre Lebensfunktionen beeinträchtigt. Man muß in solchen Fällen, um eine längere Kultur dieser Bakterien zu ermöglichen, dem Nährboden säurebindende Stoffe zusetzen, so daß

im Augenblick der Entstehung der Säure deren Bindung und Neutralisation erfolgen kann.

Bei Verwendung flüssiger Nährmedien kann man zertrümmerte geglühte Muschelschalen oder Marmorstückchen zusetzen. Es hat das dann den Vorteil, daß die Nährflüssigkeit durchsichtig bleibt.

Aber bei Verwendung fester Nährböden, wie Nährgelatine und Nähragar, muß man die säurebindenden Substanzen, die ja keine stärkere Alkalescenz des Nährbodens herbeiführen dürfen, in Form feinster Pulver zugeben, wodurch der Nährboden trüb und undurchsichtig wird. Immerhin würde diese unerwünschte Veränderung des Nährbodens dann ohne Bedeutung sein, wenn es sich lediglich um die Erzielung von Dauerkulturen oder Bakterienmaterial in größeren Mengen handelte. Als solche Zuschläge zu den Nährböden zum Zweck der Säurebindung kommen in Betracht: Kreide, Zinkkarbonat und Magnesia carbonica. Wie ich aus der Literatur ersehe, sind solche Zusätze wiederholt gemacht worden, allerdings mehr zu diagnostischen als zu kulturellen Zwecken.

So versetzte Beyerinck seinen Nähragar mit einer Aufschwemmung fein geschlemmter Kreide. Auch verwandte er die Karbonate von Magnesia, Barium, Strontium, Mangan und Zink.

Da zu befürchten ist, daß bei dickeren Nährbodenschichten die durch die Säure aus den Karbonaten entbundene Kohlensäure den festen Nährboden blasig macht und zersprengt, so würden sich die Oxyde der vorgenannten Elemente vielleicht besser als Zusätze eignen.

Aber die Oxyde bezw. Hydroxyde der alkalischen Erden sind verhältnismäßig reichlich im Wasser des Nährbodens löslich und reagieren auch zu stark alkalisch. Außerdem wohnen auch ihren schwachen Lösungen bakterientötende Eigenschaften inne.

Besser geeignet erscheinen daher die Oxyde des Zinks und der Magnesia, deren letzterem wegen der Indifferenz noch der Vorzug zu geben ist. Mit Hilfe eines Zusatzes von Magnesiumoxyd (Magnesia usta) zum Nähragar und zur Nährgelatine kann man Nährböden erzielen, die gestatten, Säurebildner ohne Änderung der Reaktion des Nährbodens in sauer zu kultivieren, also mehrtägige, ja mehrwöchentliche Kulturversuche durchzuführen.

Ich habe aus den Literaturangaben nicht ersehen können, ob man länger dauernde Kulturversuche unter Verwendung magnesiahaltiger Nährböden angestellt hat. Da solche Kulturversuche wegen ihrer Umständlichkeit und Mühseligkeit nur selten ausgeführt werden, so ist es auch wahrscheinlich, daß wesentliche Angaben nicht existieren. Ich habe aber in der Literatur Mitteilungen darüber gefunden, daß man die mit einem Überschuß von Basen versetzten festen Nährböden dazu benutzt hat, um die Säurebildung sichtbar zu machen.

So hat der schon erwähnte Beyerinck die Säurebildung bei Essig- und Milchsäurebakterien in der Weise darzutun versucht, daß er dem Nährboden Karbonate der alkalischen Erden, des Mangans und Zinks zusetzte. Er konnte dann feststellen, daß in der Umgebung der Bakterienkolonien der frischbereitet trübe,

milchige Nährboden sich aufhellte, ja vollkommen durchsichtig wurde, so daß recht charakteristische Bilder für das Wachstum der Säurebakterien entstanden.

Im Verlaufe von Versuchen über den Einfluß der Säurebildung der Bakterien auf die Reaktion des Nährbodens, die im Hygienischen Institut zu Rostock ausgeführt wurden, ergab sich das Bedürfnis, als Nähragar Magnesia usta-haltigen Nähragar zu verwenden.

Herr Professor Dr. Pfeiffer veranlaßte mich, solchen Nähragar herzustellen und seine Anwendungsfähigkeit zu prüfen. Bei diesen Versuchen ergaben sich einige beachtenswerte Erscheinungen, die ich im nachstehenden schildern will. Zuvor berichte ich kurz über die Herstellung des Nähragars.

Im Dampftopf verflüssigter Glyzerinnähragar, wie er regelmäßig im Institut gebraucht wird, wurde in einer Reibschale mit Magnesia usta möglichst gleichmäßig gemischt. Die Reibschale mußte während des Mischens zur Verhütung des zu frühen Erstarrens des Nähragars ziemlich warm gehalten werden. Der nach dem Verrühren mit Magnesia usta mehr oder weniger milchig trübe Nähragar wurde alsdann in verschließbare Flaschen gefüllt und neuerdings sterilisiert. Alsdann wurden nach gutem Durchmischen des flüssigen Magnesia usta-haltigen Nähragars Platten in Doppelschalen gegossen und der Agar rasch zum Erstarren gebracht. Dabei ließ sich nicht regelmäßig verhindern, daß die Magnesia usta sich doch noch am Boden der Schalen dichter absetzte.

Der Magnesia usta-Zusatz wurde probeweise variiert und betrug zwischen 0,25 % und 8 %. Da sich

später herausstellte, daß Zusätze von Magnesia usta in der Höhe von ¼ bis 1 % ausreichten, um die zu erwartenden Erscheinungen deutlich zutage treten zu lassen, so verwandte ich später nur mehr diese. Bei Verwendung der höherprozentigen Magnesia-Agar-Platten stellte sich zudem eine ausgesprochene Wachstumshemmung der Bakterien heraus. Bei geringer Aussaat wurde auch schon bei ½prozentiger Magnesia-Agar-Platte beobachtet, daß eine Wachstumshemmung stattfand. Die Kolonien blieben sehr klein und waren meist nur mit der Lupe erkennbar. Auch war bisweilen, so z. B. bei Parallelaussaaten von Kot auf ¾ % Magnesia ustahaltigen Agarplatten und Drigalskiplatten ein vollständiges Ausbleiben des Wachstums der Coli- und Typhusbakterien zu beobachten. Die Platten wurden, nachdem sie oberflächlich trocken geworden, mit verschiedenen Bakterienarten beimpft, mit ausgesprochenen Säurebildnern, nämlich mit

Bakterium acidi lactici,
einigen Colistämmen,
Staphylococcus aureus u. albus,

und mit einigen wenig säurebildenden, später Alkali liefernden Bakterienarten, wie:

Typhus-Bakterien,
Paratyphus-Bakterien und
Choleravibrionen.

Die zu den Aussaaten verwandten Bakterien stammten aus frischen, 24stündigen Glyzerinagarkulturen, deren gute Wachstumsfähigkeit aus der Üppigkeit der gebildeten Rasen sicher zu entnehmen war.

Zunächst wurden 2 Colistämme mittels Platinöse auf 4 Platten ausgestrichen, welche Magnesia usta in 4 verschiedenen, nicht näher bestimmten, aber jedenfalls zu starken Konzentrationen enthielten. Nach 24stündiger Bebrütung war auf den 4 Platten nur ein sehr kümmerliches Wachstum der Colibakterien festzustellen. Nach 2 × 24stündiger Bebrütung war das Wachstum etwas besser. Gleichzeitig zeigte sich, daß um die Striche, und zwar besonders auf der Platte mit dem größten Magnesia usta-Gehalte, die Oberfläche des Nährbodens eingesunken war. Eine längere Beobachtung dieser 4 Platten war darum nicht möglich, weil der Nährboden zu stark eintrocknete. Das Einsinken erklärt sich zweifellos aus der Volumenverminderung der Magnesia usta bei ihrer teilweisen Lösung zu Salzen. Um das Optimum des Gehaltes des Nähragars an Magnesia usta für die Bakterienkulturen festzustellen, wurde der Magnesia usta-Zusatz nunmehr quantitativ gemacht und je 1 g Magnesia usta nach Vermengung mit wenigen Kubikzentimetern destillierten Wassers bis zur Erzielung eines gleichmäßigen Breies mit 100 g verflüssigten Nähragars vermischt.

Ebenso wurden Magnesia usta-Nähragar-Mischungen mit 2, 4 und 8 g Magnesia usta auf 100 g Nähragar angefertigt.

Die aus diesen Mischungen hergestellten Kulturplatten wurden außer mit den schon geprüften Colistämmen noch mit Staphylococcus aureus und albus, 2 verschiedenen Typhus- und 1 Paratyphusbakterienstamm oberflächlich besät. Auf eine Platte kamen stets

mehrere Bakterienarten zur Aussaat, selbstverständlich in genügenden Abständen der Aussaatstriche. Die beimpften Platten wurden im Brutschranke bei 37 ° C. längere Zeit belassen und ihr Aussehen alle 24 Stunden kontrolliert.

Die Platte mit 1 % Magnesia usta-haltigem Nähragar bot nach 24 Stunden folgendes Bild:

In den Aussaatstrichen sind sämtliche Bakterienarten gut gewachsen. Neben den Strichen, auf welchen die Typhus- und Paratyphusbazillen zur Entwicklung gekommen waren, war der Nährboden bis zur Durchsichtigkeit aufgehellt. Auch unter dem Bakterienrasen war er durchsichtig geworden, während er sonst milchig trüb erschien. Bei mikroskopischer Betrachtung erwies sich der Nährboden an den durchsichtig gewordenen Stellen vollkommen frei von Magnesiateilchen. In der Nachbarschaft der übrigen Bakterienrasen war nur eine ganz minimale Aufhellung in unmittelbarer Nähe der Rasenränder zu erkennen.

Nach 2 × 24stündiger Bebrütung hatte in der Umgebung der Typhus- und Paratyphusbazillenrasen der durchsichtige Hof etwa die doppelte Breite erreicht. Aber nun war auch um die Rasen der Colibakterien herum ein durchsichtiger Hof entstanden. Während in der Nähe des Kulturrasens des Staphylococcus albus gar keine Aufhellung erkenntlich war, war nun um den des Staphylococcus aureus die Bildung eines Hofes zu konstatieren.

Nach 3 × 24stündiger Bebrütung hatte die Aufhellung der Umgebung der Kulturrasen allgemein zugenommen und war auch bei dem des Staphylococcus

albus zum Vorscheine gekommen. Die Paratyphusbazillen hatten den Magnesia usta-haltigen Nähragar weitaus am stärksten aufgehellt.

In den beiden folgenden Tagen nahm die Aufhellung des Nährbodens mehr und mehr zu. Die Aufhellungszonen bei den Rasen der Typhus- und Paratyphusbazillen berührten sich bereits.

Nach 5 × 24stündiger Bebrütung setzte die Austrocknung des Nährbodens der weiteren Beobachtung ein Ziel.

Das Aussehen der verschiedenen Bakterienrasen war anfänglich nicht sehr auffallend. Im durchfallenden Lichte sahen die Typhus- und Paratyphusbazillenrasen opalescent, im auffallenden grauweiß aus. Die Rasen der Colibakterien waren am Rande graugelb, in der Mitte deutlich braun.

Die Rasen hatten auch ein erhebliches Flächenwachstum erlangt, besonders die der Typhus- und Colibakterien. Die ursprünglich nur 1 mm breiten Rasen waren bis zu 1 cm breit geworden. Das Flächenwachstum nahm jedoch mit der Aufhellung des Nährbodens nicht entsprechend zu.

Auf den Platten mit 2 % Magnesia usta-haltigem Nähragar war nach 24 Stunden ein deutliches Zurückbleiben des Wachstums der ausgesäten Bakterien zu beobachten, nur die Paratyphusbazillen hatten noch einen üppigen Rasen produziert, jedoch waren die Aufhellungszonen auch hier viel schmäler.

Bei 4 % Magnesia usta-haltigem Nähragar war die Wachstumshemmung sehr auffallend, und schon nach

3 × 24 Stunden schien das Wachstum still zu stehen.

Wurde statt des Glyzerin-Pepton-Nähragars der Drigalski-Nutrose-Milchzuckeragar verwendet, so war schon auf der mit 2 % Magnesia usta versetzten Agarplatte das Wachstum der ausgesäten Bakterien im höchsten Grade kümmerlich. Immerhin trat auch an dieser Platte die Erscheinung der Aufhellung, namentlich in der Umgebung der Rasen der Typhus-, Paratyphus- und Colibakterien zutage. Außerdem ließ sich bei Betrachtung der Platte von unten eine schwache rötliche Verfärbung des lakmusfarbstoffhaltigen Nährbodens unter den Colibakterien-Rasen erkennen, ein Zeichen dafür, daß alle Säure nicht sofort gebunden war. Mir schien, zumal bei den 4% und 8 % Magnesia usta-haltigen Drigalski-Agarplatten die Wachstumshemmung so groß war, daß nur bei ganz reichlichen Aussaatmengen überhaupt noch Pilzrasen sich bildeten, die Verwendung des Drigalskinährbodens für die weiteren Versuche aussichtslos.

Ich habe dann auch noch Versuche über das Wachstum der Choleravibrionen auf Magnesia usta-haltigen Nährböden unternommen. Choleravibrionen sind ja bekanntlich gegen Säuren sehr empfindlich und beanspruchen besonders stark alkalische Nährmedien zur erfolgreichen Kultivierung. Beim Wachstum auf 1 % Magnesia usta enthaltendem Nähragar lieferten die ausgesäten Choleravibrionen üppige Kulturen, deren Masse bedeutend größer war, als die der demnächst auf dem Nährboden am besten wachsenden Paratyphus-

bazillen. Die Kolonienrasen waren von breiten Aufhellungszonen umgeben. Die mit mehreren Aussaatstrichen beimpfte Platte war nach 2 × 24stündiger Bebrütung fast vollkommen durchsichtig geworden. Von der im Nährboden verteilten Magnesia usta waren auch bei mikroskopischer Betrachtung nur noch geringe Reste zu erkennen.

Wenn man berücksichtigt, daß die Typhusbazillen, Paratyphusbazillen und Choleravibrionen nur anfänglich geringe Menge Säuren bilden, später Alkali oder Aminoverbindungen, so ist die Wirkung auf den Magnesia usta-haltigen Nährboden höchst bemerkenswert. Gerade bei dem Wachstum dieser 3 Bakterienarten wurde die meiste Magnesia in Lösung gebracht, der Nährboden am stärksten aufgehellt.

Die Tatsache, daß die Typhus- und Paratyphusbazillen auf dem Magnesia usta-haltigen Nährboden unter teilweise recht starker Aufhellung desselben gediehen, mußte selbstverständlich zu Versuchen anregen, diese Erscheinung dem Nachweise der Typhus- bezw. Paratyphusbazillen dienstbar zu machen. Würden z. B. die Kolonien dieser beiden Bakterienarten sich regelmäßig frühzeitig mit einem Aufhellungshof umgeben, während andere begleitende Bakterien dies nicht täten, so würde die Auffindung der Typhusbazillen erleichtert werden. Zwar haben wir in den Nährböden von Endo, Drigalski-Conradi und in dem Malachitgrünnährboden von Loeffler sehr gute Nährböden zum Nachweise von Typhusbazillen im Wasser und in Darmausleerungen, aber warum soll es nicht möglich sein,

noch bessere ausfindig zu machen? Nun war beim Eintritt in diese Versuche die Schwierigkeit nicht zu verkennen, die darin lag, daß bei dichter Besäung stärkere Aufhellung oder Beeinträchtigung der Aufhellung eintreten konnten. Es brauchten die mit den reinen Bakterien auf Magnesia usta-haltigen Nährböden erzielten Erscheinungen bei der Aussaat von Gemischen von Bakterien nicht in der kurzen Zeit aufzutreten. Endlich konnten ja auch andere Bakterien, deren Verhalten bisher noch nicht untersucht war, bei ihrem Wachstum auf Magnesia usta-haltigen Nährböden noch viel stärkere Aufhellungen herbeiführen. Aber es verlohnte sich sicherlich, der Anregung nachzugehen.

Zunächst mußten die Versuche mit Mischungen von Typhus- und Colibakterien angestellt werden. Zu diesem Behufe wurde je 1 Öse Typhus- und Colibakterienmaterial in 3 ccm 0,85 %iger physiologischer Kochsalzlösung verrieben, dann wurden von dieser Verreibung 2 Ösen mittels Glasspatels auf 2 große Platten mit 1 % Magnesia usta-Gehalt ausgestrichen und in der üblichen Weise eine Verdünnung auf einer 2. Platte hergestellt. Überraschenderweise zeigte sich nach 24stündiger Bebrütung, daß überhaupt keine Kolonien von Typhus- und Colibakterien zur Entwicklung gekommen waren.

Bei Herabsetzung des Magnesia usta-Gehaltes des Nährbodens auf ¼ %, ½ % und ¾ % waren die Ergebnisse der in gleicher Weise wiederholten Versuche zum Teile günstiger. Zwar blieb auf der ¾ % Magnesia usta-haltigen Agarplatte das Wachstum von Kolonien auch aus, und auf der ½ % Magnesia usta-haltigen Agar-

platte zeigte sich erst nach 2 × 24stündiger Bebrütung ein geringes Wachstum, dafür war aber auf der $^1/_4$ % Magnesia usta-haltigen Agarplatte schon nach 16 Stunden eine große Zahl von kleinen Kolonien zu erkennen, die nach 24 Stunden zum Teile Stecknadelkopfgröße erreicht hatten und teils bräunlich, teils tautropfenartig waren. Die bräunlichen Kolonien waren solche von Colibakterien, die tautropfenähnlichen Typhusbakterienkolonien. Zu ihrer Identifizierung wurden Agglutinationsprüfungen mit hochwertigen Immunseris gemacht. Es zeigte sich die überraschende Tatsache, daß die Typhus- und Colibakterien nicht agglutiniert wurden, während die auf Parallelplatten mit Drigalskiagar ohne Magnesiazusatz gezüchteten Bakterien gut agglutinierbar waren.

Man darf hiernach wohl annehmen, daß höchstens auf Agarplatten mit $^1/_4$ % Magnesia usta-Gehalt Kolonien von Typhus- und Colibakterien diagnostisch unterschieden werden können.

Bei einem zweiten gleichartigen Versuche mit $^1/_4$ % Magnesia usta-haltigem Glyzerinnähragar wurde dasselbe Ergebnis erzielt. Wurden die als Coli- bezw. Typhusbakterienkolonien anzusehenden Kolonien auf Drigalskinährboden übertragen, so konnte durch Agglutination festgestellt werden, daß die kleinen, farblosen, tautröpfchenartigen tatsächlich solche der Typhusbakterien, die gelbbräunlichen solche der Colibakterien waren. Wurden von den Kolonien, welche auf der Drigalskiplatte zur Entwicklung gekommen waren, Typhus- und Colibakterien rückwärts auf $^1/_4$ % Magnesia usta-

haltige Agarplatten gebracht, so war nach 16 Stunden wiederum deutliches Wachstum zu verzeichnen.

Die Typhus- und Colibakterien verlieren offenbar ihre Agglutinationsfähigkeit bei der Kultur auf Magnesia usta-haltigem Nährboden. Wiederholte wechselseitige Übertragungen von Magnesia usta-haltigen Agarplatten auf Drigalskiagarplatten und umgekehrt lieferten stets die gleichen Befunde.

Was die Aufhellung des Magnesia usta-haltigen Nährbodens durch Kolonien der Typhus- und Colibakterien anlangt, so ist anzuführen, daß sie auftrat und zwar bereits nach 24stündiger Bebrütung der Platten, aber deutlich war sie nur da, wo mehrere Kolonien dicht beieinander standen. Die Aufhellung nahm auch bei längerer Bebrütung zu. Vereinzelt liegende Kolonien der Typhusbakterien zeigten jedoch selbst dann keine Aufhellungshöfe.

Die Colibakterien bildeten 2- bis 10 mal größere Kolonien als die Typhusbakterien und wurden in zunehmendem Maße bräunlichgelb, während die Kolonien der Typhusbakterien wenigstens 24 Stunden lang völlig farblos erschienen und erst nach 36 Stunden eine grauweißliche Verfärbung aufwiesen.

Die Farblosigkeit, die Durchsichtigkeit und das Kleinbleiben der Kolonien der Typhusbakterien waren auch bei den späteren Versuchen, bei welchen die Menge der Colibakterien im Vergleiche zu der der Typhusbakterien variiert wurde, dergestalt deutlich, daß selbst wenn das Verhältnis der Typhusbazillen zu den Colibakterien bis auf 1:8 gesteigert wurde, sie immer ein

gutes Mittel zu ihrer Erkennung waren, auch waren unter diesen Bedingungen die Aufhellungshöfe um die Kolonien der Typhusbazillen so charakteristisch, daß diese leicht erkannt werden konnten; sobald aber die Zahl der Kolonien auf den Platten überhaupt eine sehr große war, war die Aufhellung eine allgemeine, und versagte diese als diagnostisches Hilfsmittel. Man kann hieraus schon mit Sicherheit erkennen, daß zu diagnostischen Zwecken die Verwendung des Magnesia usta-haltigen Nährbodens keine Vorteile, durch die Verhinderung der Agglutinationsprüfung geradezu Nachteile bietet.

Ich habe dennoch versucht, in Darmausleerungen von Typhusbazillenträgern, die reichlich Typhusbazillen beherbergten, wie durch Aussaaten auf Drigalskinährboden sichergestellt war, mit Hilfe des $^1/_4$ % Magnesia usta-haltigen Nährbodens Typhusbazillen nachzuweisen. Es ist dies auch gelungen, aber um die Typhusbazillen zu identifizieren, mußten die verdächtigen Kolonien erst auf Magnesia usta-freien Nährboden gebracht werden. So kam ich erst nach 40 bis 48 Stunden, statt nach 16 bis 20 Stunden zum Nachweise der Typhusbazillen in den Ausleerungen.

Um das Verhalten der zu den Versuchen verwendeten Bakterien bei Kultur auf Magnesia usta-haltigen Nährböden noch weiter zu prüfen, habe ich auch Kulturen auf hoher Magnesia usta-haltiger Nähragarschichte in flüssigen Nährmedien und in Nährgelatine probiert.

$^1/_4$ % Magnesia usta enthaltender Glyzerinagar wurde in einer 3—4 cm hohen Schichte in einem weiten

Reagenzglase möglichst schnell zum Erstarren gebracht, wobei es auch gelang, die Magnesiateilchen in ziemlich gleichmäßiger Verteilung in allen Schichten des Nährbodens zu halten. Dieser magnesiahaltige Nähragar wurde oberflächlich mit Typhus- und Colibakterien besät. Nach 12stündiger Bebrütung waren beide Bakterienarten üppig gewachsen, auch war unter den Bakterienrasen eine dünne, aufgehellte Schichte bereits deutlich erkennbar. Bei den täglichen Kontrollen konnte man sehen, wie der mit Typhusbakterien besäte Nährboden pro Tag ungefähr um 4 mm nach der Tiefe zu aufgehellt wurde. Die Colibakterien erzeugten pro Tag eine Aufhellung von ungefähr nur 3 mm.

Es wurden weiter Versuche dieser Art angestellt, wobei ¾ % und 1½ % Magnesia usta-haltiger Nähragar verwendet wurde. Hierbei stellte sich heraus, daß, je stärker der Prozentgehalt an Magnesia wurde, um so langsamer die Aufhellung des Nährbodens nach der Tiefe zu von statten ging.

Bei den nächsten Versuchen wurde Nährgelatine mit den bisher erprobten Mengen Magnesia usta versetzt. Das Wachstum von Bakterien auf diesen Nährböden erfolgte ohne charakteristische Kennzeichen.

Außerdem wurde noch das Verhalten von Bakterien in Magnesia usta-haltiger Nährbouillon, welcher als Säureindikator Lakmuslösung zugegeben wurde, geprüft. Außer den bisher genannten Bakterien wurde zu diesen Versuchen noch der Streptococcus lactis verwendet. Schon nach 24stündiger Bebrütung zeigte sich, daß die vorher nahezu dunkelblaue magnesiahaltige

Bouillon etwas heller geworden war, es wurde also der Lackmusfarbstoff zum Teile entfärbt. Besonders stark war die Entfärbung in der Kultur des Streptococcus lactis aufgetreten.

Bei allen Kulturen lagerte auf dem Boden des Gefäßes ein Niederschlag von Magnesia usta, vermengt mit den eingeimpften Bakterien und Lakmusfarbstoff. Die verschiedenen Bouillonkulturen wurden 10 Tage lang bebrütet. Die Stärke der Farbe des Lakmus wurde von Tag zu Tag geringer, die Kulturflüssigkeiten sahen nur noch blaßblau aus. Ein Umschlag der Farbe in Rot wurde nicht beobachtet.

Nach 10tägiger Bebrütung war der Niederschlag in den Bouillonkulturen graubläulich. Beim Schütteln blieb ein geringer Teil des Niederschlages fest am Boden sitzen, während der übrige Teil eine Trübung der Bouillon verursachte.

Die mikroskopische Untersuchung des am Boden beim Umschütteln sitzengebliebenen Niederschlages ergab, daß dieser teils nadelförmige Kristalle, teils amorphe Gebilde enthielt, zwischen welchen die vorher eingeimpften Bakterien verstreut lagen. Die Trübung beim Umschütteln entstand durch die Bakterien, die sich über der überschüssigen Magnesia usta in ziemlich dichter Schichte zu Boden gesetzt hatten.

Fasse ich das Ergebnis meiner Untersuchungen über das Verhalten der untersuchten Bakterienarten auf Magnesia usta-haltigen Nährböden zusammen, so muß ich hervorheben, daß die untersuchten Bakterien auf dem Nährboden mit mäßigem Magnesia usta-Gehalte

gut gediehen, daß sie bei ihrem Wachstum charakteristische Veränderungen an dem Nährboden herbeiführten, die darin bestanden, daß im nächsten, aber auch weiteren Bereiche der Aussaatstriche und Kolonien die Magnesia usta gelöst und der Nährboden entsprechend aufgehellt wurde, daß bei längerem Bebrüten das Wachstum erfreulich fortschritt, daß überschüssige Säure im Nährboden nicht auftrat, daß aber andererseits größere Gehalte des Nährbodens an Magnesia usta zu starken Wachstumshemmungen führten. Die Verwendung Magnesia usta-haltigen Nährbodens zu Bakterienzüchtungen ist daher nur unter bestimmten Voraussetzungen zweckmäßig.

Hervorheben will ich, daß die an sie geknüpfte Erwartung, Handhaben für leichteren und rascheren Nachweis besonders der Typhusbakterien zu bekommen, nicht in Erfüllung ging. Vielmehr läßt der Umstand, daß die Typhusbakterien beim Wachstum auf Magnesia usta-haltigen Nährböden die Fähigkeit verloren, durch Immunserum agglutiniert zu werden, die Verwendung der Magnesia usta-haltigen Nährböden zum diagnostischen Nachweise der Typhusbazillen, z. B. in Darmausleerungen, unmöglich erscheinen.

Zum Schluß sei mir gestattet, Herrn Geh. Med.-Rat Professor Dr. Pfeiffer für die Überlassung des Themas zu dieser Arbeit und für das Interesse an derselben, sowie Herrn Stabsarzt Dr. Donges für seine liebenswürdige Hilfe und Anteilnahme am Fortschreiten der Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Petruschky, Bakterio-chem. Untersuchungen. Centralbl. f. Bakt. usw., I. Abt. Orig. Bd. 6, 1889, Nr. 23 u. 24, Bd. 7 Nr. 1 u. 2.
2. Berghaus, Über Säuerung des Nährbodens durch Bakterien und ihr Nachweis mittels Harnsäure. Hygienische Rundschau 1906, Bd. 16.
3. Beyerinck, M. W., Verfahren zum Nachweise der Säureabsonderung bei Mikrobien. Centralbl. f. Bakteriologie usw., I. Abt. Orig. Bd. 9, 1891.
4. Hesse, W., Über den Einfluß der Alkalescenz des Nährbodens auf das Wachstum der Bakterien. Zeitschrift für Hygiene, Bd. 15.
5. Wichern, Quantitative Untersuchungen über die Reduktionswirkung der Typhus-Coli-Gruppen. Archiv für Hygiene, Bd. 72.
6. Behring, Zeitschrift für Hygiene, Bd. 7, S. 178.
7. Smith, Th., Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. 18, 1.
8. Mandelbaum, Münch. Mediz. Wochenschrift 1909, S. 2475.
9. Riemer, Beeinflussung der Agglutinierbarkeit der Typhusbazillen durch den Alkaligehalt des Nährbodens. Münch. Mediz. Wochenschrift 1913.

Lebenslauf.

Ich, Kuno Lothar Blaßl, evangelischer Konfession, bin geboren am 31. März 1888 in Zobes bei Neuensalz im Vogtland. Ostern 1908 erwarb ich mir auf dem Realgymnasium zu Plauen i. V. das Zeugnis der Reife und studierte darauf in Leipzig, Würzburg, Marburg und zuletzt in Rostock Medizin, wo ich im Dezember 1913 das ärztliche Staatsexamen bestand.